



V

②① Gesuchsnummer: 6290/71

⑥① Zusatz zu:

⑥② Teilgesuch von:

②② Anmeldungsdatum: 29. 4. 1971, 17 h

③③ ③② ③① Priorität:

Patent erteilt: 15. 6. 1974

④⑤ Patentschrift veröffentlicht: 31. 7. 1974

⑤④ Titel: **Verfahren und Vorrichtung zur Anzüchtung lyophilisierter anaerober Bakterien auf sterilen Nährmedien zu aktiven Kulturen**

⑦③ Inhaber: Otto Bieri, Bern

⑦④ Vertreter:

⑦② Erfinder: Otto Bieri, Bern

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Anzüchtung bakteriologisch reiner Kulturen mit Hilfe einer Vorrichtung, die aus einem an beiden Enden verschweissten Stück Schlauch besteht, und ein flüssiges steriles Nährmedium sowie lyophilisierte Bakterienstämme in Ampullen enthält.

Die bisher bekannten und gebräuchlichen Anzüchtungsverfahren setzen minimale Laboreinrichtungen, insbesondere das Vorhandensein von Brenner und sterilen Geräten voraus. Um die in Ampullen gespeicherten Bakterien bei ihrer Übertragung auf die sterilen Nährsubstrate vor einer Infektion zu bewahren, muss die Bruchstelle der Ampulle abflambiert werden. Dieses Verfahren hat den Nachteil, dass Industrie- und Gewerbebetriebe, insbesondere Käsereien und Molkereien mangels entsprechender Laboreinrichtungen kaum in der Lage sind, unter Ausschluss von Fremdinfectionen bakteriologisch reine Kulturen anzuzüchten. Aus diesem Grunde sind die erwähnten Betriebe bei der Beimpfung ihrer Betriebskulturen auf bereits angezüchtete einsatzbereite Starterkulturen angewiesen.

Die Erfindung bezweckt, jederzeit und überall jede Fremdinfection bei der Anzucht auszuschliessen und bakteriologisch reine Kulturen zu gewährleisten. Diese Aufgabe wird mit Hilfe der nachstehend zu beschreibenden Vorrichtung erfindungsgemäss dadurch erreicht, dass die im verschweissten Schlauch ausser dem Nährmedium noch enthaltene Ampulle mit den lyophilisierten Bakterien ohne Öffnen des Schlauches gebrochen wird, was zur Anzüchtung der Bakterien auf dem Nährsubstrat zu einer aktiven Kultur führt, deren Aktivität und Bakterienbesatz sich dadurch steigern lässt, dass bereits die erste Anzüchtung in einer mit Hilfe eines Quetschhahns 6a unterbundenen 7 Zelle des Schlauchstückes vorzunehmen ist, in deren Anschluss nach erfolgtem Bakterienwachstum mit Hilfe eines zweiten Quetschhahns 6b eine wird, dass unterhalb des ersten Quetschhahns 6a in der oberen Hälfte der ersten Zelle 7a mittels eines dritten Quetschhahns 6c eine bestimmte Menge Kultur 8 abgebunden und durch Entfernen des zuerst angebrachten Quetschhahns 6a auf dem Nährmedium der zweiten Zelle 7b an- und weitergezüchtet wird. Dieser Vorgang ist nach Bedarf und Belieben zu wiederholen.

Die erfindungsgemässe Vorrichtung besteht aus einem in seiner Länge und seinem Durchmesser den jeweiligen Bedürfnissen anzupassenden Stück transparentem Schlauch 3, vorzugsweise aus Kunststoff, mit verschweissten Enden 4. Der Schlauch enthält ein steril abgepacktes, individuell wählbares, flüssiges Nährmedium 1 und eine oder mehrere äusserlich keimfreie Ampullen 2, die mit einzelnen lyophilisierten Bakterienstämmen oder mit einem Gemisch von Bakterienstämmen angefüllt sind. Die Ampulle weist eine angesägte, leicht brechbare Stelle auf. Der transparente Schlauch kann graduiert 5 und zum Beispiel mit XYI, XYII, XYIV 5a beschriftet werden. Anhand der bildlichen Darstellung eines Ausführungsbeispiels werden die erfindungsgemässe Vorrichtung und das erfindungsgemässe Anzüchtungsverfahren näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine Draufsicht auf die Vorrichtung;

Fig. 2 eine Draufsicht auf die Vorrichtung mit abgeschweisster Zelle 9 zu Kontrollzwecken. Bakteriologische Kontrolluntersuchungen des Nährmediums oder der gezüchteten Kultur können jederzeit vorgenommen werden, indem ein

Teil des Schlauches mit dem entsprechenden Inhalt abgeschweisst wird;

Fig. 3 Seitenansicht der Vorrichtung, die mit Hilfe von Quetschhahnen 6 in Zellen 7 aufgeteilt wurde;

Fig. 4 Draufsicht auf die Vorrichtung nach Fig. 3 mit Darstellung des Weiterzüchtens der gewachsenen Kultur 1a von Zelle 7a zu Zelle 7b. Mit Hilfe von aufklappbaren Quetschhahnen 6 nach Hofmann oder mit Hilfe ähnlicher Instrumente lassen sich absolut dichte Zellen 7 abquetschen. Fig. 3 und 4 zeigen, dass sich der Vorgang des Weiterzüchtens von Zelle zu Zelle dem Bedarf entsprechend beliebig oft wiederholen lässt. Beim Weiterzüchten ist stets darauf zu achten, dass jede Zelle nur zirka zur Hälfte ihres Volumens mit Nährsubstrat gefüllt wird, damit genügend Raum für die Quetschhahnen freibleibt. Auch das erfindungsgemässe Verfahren des Weiterzüchtens kann unter hermetischem Verschluss der erfindungsgemässen Vorrichtung und somit unter Ausschluss jeglicher Infektionsgefahr durchgeführt werden. Es ermöglicht ohne weiteres das Erzielen einer Starterkultur mit genügend hoher Keimzahl und Aktivität.

## PATENTANSPRÜCHE

I. Verfahren zur Anzüchtung und Weiterzüchtung von in Ampullen gespeicherten lyophilisierten anaeroben Bakterien auf sterilen Nährmedien in verschweisstem Schlauch zu aktiven Kulturen, dadurch gekennzeichnet, dass die Ampulle ohne Öffnen des Schlauches gebrochen wird, was zur Anzüchtung der Bakterien auf dem Nährsubstrat zu einer aktiven Kultur führt, deren Aktivität und Bakterienbesatz sich dadurch steigern lässt, dass bereits die erste Anzüchtung in einer mit Hilfe eines Quetschhahns unterbundenen Schlauchzelle vorzunehmen ist, in deren Anschluss nach erfolgtem Bakterienwachstum mit Hilfe eines weiteren Quetschhahns eine zweite Zelle abzutrennen ist, deren Beimpfung dadurch erzielt wird, dass unterhalb des ersten Quetschhahns in der oberen Hälfte der ersten Zelle mittels eines dritten Quetschhahns eine bestimmte Menge Kultur abgebunden und durch Entfernen des zuerst angebrachten Quetschhahns auf dem Nährmedium der zweiten Zelle an- und weitergezüchtet wird, welcher Vorgang sich nach Bedarf und Belieben wiederholen lässt.

II. Vorrichtung zur Anzüchtung und Weiterzüchtung von biologisch reinen Bakterienkulturen, dadurch gekennzeichnet, dass in ein an beiden Enden verschweisstes, beliebig langes transparentes Stück Schlauch ein steril abgepacktes individuell wählbares, flüssiges Nährmedium und eine oder mehrere äusserlich keimfreie Ampullen enthält, die mit einzelnen Bakterienstämmen oder mit einem Gemisch von Bakterienstämmen angefüllt sind und eine angesägte leicht brechbare Stelle aufweisen.

## UNTERANSPRÜCHE

1. Vorrichtung nach Patentanspruch II, dadurch gekennzeichnet, dass sie mit Hilfe von Quetschhahnen in Zellen unterteilt ist.

2. Vorrichtung nach Patentanspruch II und Unteranspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Schlauchstück und die einzelnen Zellen beschriftet und graduiert werden können.

Figure 1 is a schematic diagram of a vertical container assembly. The assembly is divided into several horizontal sections. The top section, labeled '4', contains a mixture of 'xy' and 'I'. Below this is a middle section, labeled '5a', which contains a liquid, labeled '5'. The bottom section, labeled '3', contains a solid material, labeled '1'. A vertical tube, labeled '2', is inserted into the bottom section '3'. The bottom section '3' is also labeled with '4' at the very bottom. The diagram illustrates the arrangement of these components within the container.